



## DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITE DE COOPERATION EN MATIERE DE BREVETS (PCT)

<b>(51) Classification internationale des brevets <sup>6</sup> :</b> <b>A61K 33/00</b>	<b>A1</b>	<b>(11) Numéro de publication internationale:</b> <b>WO 98/01142</b> <b>(43) Date de publication internationale:</b> 15 janvier 1998 (15.01.98)
<b>(21) Numéro de la demande internationale:</b> PCT/CA97/00428 <b>(22) Date de dépôt international:</b> 18 juin 1997 (18.06.97) <b>(30) Données relatives à la priorité:</b> 2,180,506 4 juillet 1996 (04.07.96) CA <b>(71) Déposant (pour tous les Etats désignés sauf US):</b> INSTITUT DU N.O. INC. [CA/CA]; 663 McEachran, Outremont, Quebec H2V 3C6 (CA). <b>(72) Inventeur; et</b> <b>(75) Inventeur/Déposant (US seulement):</b> BLAISE, Gilbert [CA/CA]; 539 Stuart, Outremont, Quebec H2V 3H1 (CA). <b>(74) Mandataires:</b> DUBUC, Jean, H. etc.; Goudreau Gage Dubuc & Martineau Walker, The Stock Exchange Tower, Suite 3400, 800 Place Victoria, P.O. Box 242, Montreal, Quebec H4Z 1E9 (CA).		<b>(81) Etats désignés:</b> AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CU, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, GB, GE, GH, HU, IL, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZW, brevet ARIPO (GH, KE, LS, MW, SD, SZ, UG, ZW), brevet eurasien (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), brevet européen (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), brevet OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, ML, MR, NE, SN, TD, TG).  <b>Publiée</b> <i>Avec rapport de recherche internationale.</i>
<b>(54) Title:</b> NITRIC OXIDE INHALATION FOR THE PROPHYLAXIS AND TREATMENT OF INFLAMMATORY RESPONSE <b>(54) Titre:</b> MONOXYDE D'AZOTE INHALE POUR LA PREVENTION ET LE TRAITEMENT DES REACTIONS INFLAMMATOIRES <b>(57) Abstract</b> <p>The use of nitric oxide as a gaseous drug for preventing or controlling inflammatory response following extracorporeal blood circulation in humans and animals is disclosed. The gaseous drug is preferably inhaled and delivered to a human or animal by oral or nasal intubation, during at least part of the pre-operative preparation period, during the operation itself and during part of the post-operative recovery period. The drug is also preferably administered at a concentration of 0.5-80 ppm. The use of nitric oxide is also intended to protect the renal, pulmonary, hepatic and neurological functions following extracorporeal blood circulation, and to cause relaxation of the left ventricle of the cardiac muscle.</p> <b>(57) Abrégé</b> <p>Utilisation du monoxyde d'azote en tant que médicament gazeux destiné à prévenir ou à lutter contre les réactions inflammatoires consécutives à une circulation sanguine extracorporelle chez l'homme ou l'animal. Préféablement, le médicament gazeux est inhalé et est administré à l'homme ou à l'animal par intubation orale ou nasale et au moins durant une partie de la phase de préparation opératoire, durant la phase opération et durant une partie de la phase de récupération post-opératoire. Aussi préféablement, le médicament sera administré à une concentration de 0.5 et 80 ppm. L'utilisation du monoxyde d'azote est aussi destinée à préserver les fonctions rénales, pulmonaires, hépatiques et neurologiques suite à la circulation sanguine extracorporelle et à produire un effet relaxant au niveau du ventricule gauche du muscle cardiaque.</p>		

# **UNIQUEMENT A TITRE D'INFORMATION**

Codes utilisés pour identifier les Etats parties au PCT, sur les pages de couverture des brochures publiant des demandes internationales en vertu du PCT.

AL	Albanie	ES	Espagne	LS	Lesotho	SI	Slovénie
AM	Arménie	FI	Finlande	LT	Lituanie	SK	Slovaquie
AT	Autriche	FR	France	LU	Luxembourg	SN	Sénégal
AU	Australie	GA	Gabon	LV	Lettonie	SZ	Swaziland
AZ	Azerbaïdjan	GB	Royaume-Uni	MC	Monaco	TD	Tchad
BA	Bosnie-Herzégovine	GE	Géorgie	MD	République de Moldova	TG	Togo
BB	Barbade	GH	Ghana	MG	Madagascar	TJ	Tadjikistan
BE	Belgique	GN	Guinée	MK	Ex-République yougoslave de Macédoine	TM	Turkmenistan
BF	Burkina Faso	GR	Grèce	ML	Mali	TR	Turquie
BG	Bulgarie	HU	Hongrie	MN	Mongolie	TT	Trinité-et-Tobago
BJ	Bénin	IE	Irlande	MR	Mauritanie	UA	Ukraine
BR	Brésil	IL	Israël	MW	Malawi	UG	Ouganda
BY	Bélarus	IS	Islande	MX	Mexique	US	Etats-Unis d'Amérique
CA	Canada	IT	Italie	NE	Niger	UZ	Ouzbékistan
CF	République centrafricaine	JP	Japon	NL	Pays-Bas	VN	Viet Nam
CG	Congo	KE	Kenya	NO	Norvège	YU	Yougoslavie
CH	Suisse	KG	Kirghizistan	NZ	Nouvelle-Zélande	ZW	Zimbabwe
CI	Côte d'Ivoire	KP	République populaire démocratique de Corée	PL	Pologne		
CM	Cameroun	KR	République de Corée	PT	Portugal		
CN	Chine	KZ	Kazakhstan	RO	Roumanie		
CU	Cuba	LC	Sainte-Lucie	RU	Fédération de Russie		
CZ	République tchèque	LI	Liechtenstein	SD	Soudan		
DE	Allemagne	LK	Sri Lanka	SE	Suède		
DK	Danemark	LR	Libéria	SG	Singapour		
EE	Estonie						

MONOXYDE D'AZOTE INHALÉ POUR LA PRÉVENTION ET LE  
TRAITEMENT DES RÉACTIONS INFLAMMATOIRES

La présente invention concerne l'utilisation de monoxyde  
5 d'azote pour la fabrication d'un médicament à inhaler destiné à l'homme ou à  
l'animal. Un tel médicament à inhaler est utilisable à des fins de prévention  
et/ou de traitement des réactions immunitaires de type inflammatoire  
provoquées par une circulation sanguine extra-corporelle temporaire,  
notamment lors d'une opération de chirurgie cardiaque.

10

Le monoxyde d'azote est produit naturellement chez  
l'homme ou l'animal par une enzyme, la NO-synthase, laquelle est exprimée de  
façon constitutive dans les cellules endothéliales, dans les plaquettes et dans  
le système nerveux central et périphérique. Une autre forme de NO-synthase  
15 calcium-indépendante peut être induite par différents stimuli, notamment les  
liposaccharides, dans de nombreuses cellules telles que les macrophages, les  
lymphocytes, les cellules myocardiques, les cellules endothéliales et  
musculaires lisses. Le monoxyde d'azote est aussi produit en quantité  
importante dans les voies respiratoires, particulièrement dans les sinus  
20 paranasaux. À chaque inspiration, le monoxyde d'azote ainsi produit est auto-  
inhalé.

Le monoxyde d'azote est donc un messager biologique  
important chez l'homme et l'animal.

25

Parallèlement, le NO joue également un rôle déterminant  
dans le contrôle local de l'hémodynamique.

En effet, la libération de NO par les cellules endothéliales a été mise en évidence en cas de variations du débit sanguin. Le monoxyde d'azote apparaît notamment comme une composante majeure de l'adaptation physiologique du diamètre vasculaire à la perfusion sanguine; ainsi, au niveau  
5 coronaire, l'hypérémie réactive est atténuée de façon notoire en l'absence de NO. Inversement, une augmentation chronique du débit sanguin produite par une fistule artérioveineuse augmente les relaxations dépendantes de l'endothélium.

10 Le NO produit au niveau de la paroi vasculaire et dans les tissus avoisinants participe donc la régulation précise du tonus vasculaire par adaptation du débit sanguin.

En outre, le contrôle par le NO de la perméabilité veineuse  
15 post-capillaire a également été mis en évidence.

Au vu des propriétés physiologiques du NO, son utilisation thérapeutique s'est avérée particulièrement intéressante.

20 En particulier, le fait que le NO ait la propriété de maintenir une basse pression au niveau de la circulation pulmonaire, d'où il résulte un effet vasodilatateur local, a suggéré son utilisation dans le cadre de traitements thérapeutiques chez des patients atteints de maladies respiratoires, notamment dans le traitement de l'hypertension artérielle pulmonaire aiguë.

25

Ainsi, l'article de C.D.R. Borland et T.W. Higenbottam, paru sous la référence Eur. Respir. J., 1989, 2, 56-63 et le titre "A simultaneous single breath measurement of pulmonary diffusing capacity with nitric oxide and

carbon monoxide", montre, d'une part, l'influence d'une administration par inhalation de 40 ppm de NO sur l'augmentation de la concentration en oxygène alvéolaire et, d'autre part, que le NO inhalé réagit beaucoup plus vite avec l'hémoglobine que le CO inhalé.

5

La demande de brevet WO 92/10228 et d'autres publications décrivent l'utilisation du NO inhalé pour le traitement de la vasoconstriction pulmonaire et de l'asthme. Ce document enseigne l'utilisation du NO inhalé à des fins thérapeutiques ou diagnostiques dans le cas de

10 maladies respiratoires localisées au niveau des poumons du patient. Il y est notamment expliqué qu'étant donné que le NO qui pénètre dans le circuit sanguin serait rapidement inactivé par combinaison à l'hémoglobine, les effets du NO inhalé seraient limités aux vaisseaux sanguins à proximité du site d'entrée du NO dans la circulation, c'est-à-dire aux microvaisseaux pulmonaires.

15

Le brevet US N° 5,427,797 a trait, quant à lui, à l'utilisation du NO inhalé pour inhiber la coagulation et l'agrégation plaquettaire sanguine qui apparaissent chez des patients atteints de maladies respiratoires aiguës, tel le Syndrome de Détresse Respiratoire Aiguë.

20

En résumé, les publications existantes sont principalement axées vers une utilisation du NO inhalé pour le traitement ou la prophylaxie de l'hypertension pulmonaire.

25

L'inventeur de la présente invention a pour la première fois démontré que, de façon surprenante, le NO inhalé peut également être utilisé pour prévenir ou traiter les inflammations consécutives à une circulation sanguine extra-corporelle.

Lors de certaines interventions chirurgicales, il est nécessaire de dévier la circulation sanguine du patient et de mettre en place une circulation sanguine extra-corporelle provisoire. C'est notamment le cas en chirurgie cardiaque, lorsqu'il est nécessaire d'effectuer un remplacement de valve, une correction de malformation congénitale ou un pontage coronarien. De plus, il est nécessaire d'intuber le patient de manière à ventiler mécaniquement. L'intubation signifie donc un arrêt de l'apport de monoxyde d'azote produit au niveau des voies respiratoires et particulièrement dans les sinus paranasaux. Par conséquent, les patients souffrent d'une déficience aiguë en monoxyde d'azote et deviennent ainsi plus susceptibles aux réactions inflammatoires découlant d'une circulation sanguine extra-corporelle.

Durant la chirurgie cardiaque le débit sanguin du coeur est supprimé, celui des poumons est réduit au minimum et celui des autres organes peut être réduit.

La circulation extra-corporelle entraîne l'activation du processus inflammatoire, en particulier la production de cytotoxines et de molécules d'adhésion, et une activation des cellules circulantes, notamment des leucocytes, lesquels migrent vers l'endothélium vasculaire et s'y fixent. Il en résulte des réactions inflammatoires importantes, néfastes et à effets délétères au sein des organes les plus sensibles à l'hypoperfusion sanguine, tels le cerveau, les reins, le foie, le coeur et l'intestin.

Les poumons ne sont pas épargnés puisque l'état inflammatoire y induit des pressions artérielles élevées dues à l'obstruction de la microcirculation par des agrégats de cellules circulantes, en particulier

leucocytaires, et un phénomène de vasoconstriction, et il peut en résulter un oedème pulmonaire.

Il est donc primordial de prévenir ou de traiter très  
5 précocement ce problème inflammatoire afin que les troubles et les dégâts occasionnés par l'inflammation soient minimisés, voire éliminés, et par conséquent, ce traitement précoce permet de réduire les coûts hospitaliers de prise en charge du patient étant donné que sa rémission sera, a priori, plus rapide.

10

Afin de résoudre ce problème inflammatoire dû à une circulation extra-corporelle, les inventeurs de la présente invention ont mis en évidence l'effet bénéfique d'un apport précoce en NO inhalé.

15

La présente invention concerne donc l'utilisation de monoxyde d'azote (NO) en tant que médicament ou composante de médicament à inhaler destiné à prévenir ou à lutter contre les réactions inflammatoires consécutives à une circulation sanguine extra-corporelle chez l'homme ou l'animal.

20

De façon surprenante, l'inventeur de la présente invention a démontré les effets extrapulmonaires résultant d'un traitement par inhalation de monoxyde d'azote suite à une circulation sanguine extra-corporelle. Le mécanisme exact permettant au monoxyde d'azote de voyager dans les  
25 vaisseaux sanguin pour se rendre à des organes périphériques, tels foie, reins, cerveau, intestin, coeur, n'est pas complètement élucidé.

De plus, l'inventeur a aussi démontré d'autres effets systémiques du monoxyde d'azote, soit un effet relaxant au niveau du ventricule gauche du muscle cardiaque.

5 Ledit médicament à inhaler est administré à l'homme ou à l'animal, de préférence, au moins durant une partie de la phase de préparation opératoire. En effet, l'administration de NO inhalé au patient (homme ou animal) dès la phase de préparation opératoire, c'est-à-dire la phase de temps précédant la première incision et durant laquelle le patient est anesthésié et  
10 intubé, permet de réduire considérablement, voire même d'éviter toute inflammation durant la phase opératoire proprement dite durant laquelle la circulation sanguine extra-corporelle a lieu ainsi que durant la phase post-opératoire.

15 De préférence, ledit médicament à inhaler est administré par intubation orale ou nasale à une concentration efficace. Les dispositifs d'administration de NO pouvant être utilisés dans le cadre de la présente invention sont de type classique; à titre d'exemple non limitatif peut être cité le dispositif décrit dans le brevet EP N° 0 589 751. Cependant, lors de la période  
20 de circulation sanguine extra-corporelle, ledit médicament à inhaler pourra aussi être administré à même l'appareil de circulation sanguine comprenant un oxygénateur à membrane ou fonctionnant sur tout autre principe équivalent.

De manière préférée, ledit médicament à inhaler est un  
25 mélange de gaz comprenant le monoxyde d'azote. Cependant, le médicament à inhaler peut aussi être une vaporisation d'une substance contenant du NO ou autrement donneuse de NO.



Préférentiellement, ledit mélange de gaz comprend le monoxyde d'azote et au moins un composé choisi dans le groupe formé par N<sub>2</sub>, He, Ar, CO<sub>2</sub>, Xe, Kr, O<sub>2</sub> et leurs mélanges. En fait, tout gaz inerte, non-oxydant et sans activité biologique convient.

5

Avantageusement, la concentration de monoxyde d'azote dans ledit médicament à inhaler est comprise entre 0,5 ppm et 80 ppm, de préférence entre 1 et 40 ppm, et préférentiellement encore, entre 3 ppm et 10 ppm, avantageusement de l'ordre de 5 ppm.

10

Le suivi du patient est effectué selon les procédures habituelles, mais des examens complémentaires peuvent néanmoins être inclus, notamment:

- une exploration fonctionnelle respiratoire en phase pré-opératoire, c'est-à-dire avant intervention, et en phase post-opératoire, en particulier après extubation;
- un enregistrement de l'électrocardiogramme jusqu'à 48 heures après intervention;
- des analyses biochimiques urinaire et sanguine.

20

D'autres caractéristiques et avantages de la présente invention apparaîtront à la lumière de l'exemple de réalisation qui suit, lequel est donné à titre illustratif mais non limitatif.

25

Exemple 1:

Dans l'exemple qui suit, l'efficacité du médicament selon l'invention a été mise en évidence par comparaison des résultats obtenus pour deux groupes de porcs recevant le médicament de l'invention comprenant le NO à inhaler avec ceux de deux groupes témoins ne recevant pas de NO.

Conformément à ceci, quatre groupes de 5 porcs ont été anesthésiés et mis sous ventilation mécanique.

10

Le groupe 1 est le groupe témoin contrôle.

Le groupe 2 est le groupe témoin hypoxie dans lequel les porcs inhalent un mélange gazeux hypoxique (15% FiO<sub>2</sub>) provoquant une vasoconstriction pulmonaire et le déclenchement de réactions inflammatoires.

15

Le groupe 3 est le groupe recevant du NO inhalé à une concentration de 40 ppm.

20

Le groupe 4 est le groupe inhalant un mélange gazeux hypoxique contenant 40 ppm de NO.

25

Afin de permettre une évaluation des effets dus à l'inhalation de NO, des cathétères ont été posés dans les uretères, l'aorte et la veine rénale et deux marqueurs ont été injectés en continu; il s'agit de l'inuline et de l'acide para-amino-hippurique.

La mesure de la clairance des deux marqueurs permet de calculer le débit sanguin et le taux de filtration glomérulaire. Parallèlement, le débit urinaire est également mesuré.

5

Les résultats obtenus sont figurés dans le tableau ci-dessous.

	Groupe 1	Groupe 2	Groupe 3	Groupe 4
Débit urinaire	1	0.9	1.6	1.3
10 Taux de filtration glomérulaire	1	1	1.9	1.2
Débit sanguin rénal	1	0.7	2.2	0.8

15 Afin de faciliter la lecture du tableau, les valeurs des débits sanguin et urinaire, et du taux de filtration glomérulaire pour le Groupe 1 ont été volontairement fixées à 1; celles données pour les Groupes 2, 3 et 4 correspondent aux facteurs de corrélation.

20 On constate que les porcs recevant du NO inhalé ont un débit urinaire, un taux de filtration glomérulaire et un débit sanguin rénal bien supérieurs aux porcs témoins contrôle.

25 Les réactions de vasoconstriction et d'inflammation induites par l'hypoxie provoquent une diminution sensible du débit sanguin rénal. Cet effet d'hypoperfusion du rein est au moins partiellement compensé par l'inhalation du NO, qui provoque une augmentation du débit sanguin rénal, du taux de filtration glomérulaire et du débit urinaire.

Cette étude confirme donc l'effet du NO inhalé, lequel permet de s'opposer aux réactions vasoconstrictrices et inflammatoires systémiques, en réduisant notamment l'adhésion des cellules circulantes. Il en découle un effet bénéfique sur les organes dits fragiles, en particulier sur les  
5 fonctions rénales, hépatiques, cardiaques, intestinales et neurologiques du patient.

### Exemple 2

10 Dans l'exemple qui suit, l'efficacité du médicament selon l'invention a encore une fois été mise en évidence par comparaison des résultats obtenus pour un groupe de 9 porcs recevant le médicament de l'invention comprenant le NO à inhaler avec ceux d'un groupe témoin de 7 porcs ne recevant pas de NO mais recevant plutôt de la nitroglycérine (NTG) au  
15 rythme de 40 -100 µg/kg/min.

L'expérience fut menée en quatre temps: (i) mesures physiologiques de base, (ii) phase d'hypertension pulmonaire et systémique induite par une perfusion intraveineuse de phényléphrine (iii) traitement au  
20 monoxyde d'azote ou à la nitroglycérine, (iv) phase de récupération par discontinuation de tous les traitements.

Afin de permettre une évaluation des effets dûs à l'inhalation de NO, des cathéters ont été posés dans les uretères, l'aorte et la  
25 veine rénale et un marqueur fut injecté en continu. La mesure de la clairance du marqueur permettant de calculer le débit sanguin.

Les résultats obtenus sont figurés dans le tableau ci-dessous.

		Phase i	Phase ii	Phase iii		Phase iv
				NO	NTG	
5	pression sanguine systémique moyenne	1	1.55	1.60	1.47	0.95
	pression veineuse centrale	1	1.70	1.28	1.29	1.08
10	pression artérielle pulmonaire moyenne	1	1.36	1.15	1.13	1.05
	pression auriculaire gauche	1	1.97	1.38	1.25	1.20
	rythme cardiaque	1	0.94	1.03	1.17	1.03
	débit cardiaque	1	0.93	1.02	1.08	0.95
15	résistance vasculaire pulmonaire	1	1.00	0.97	0.97	1.00
	résistance vasculaire systémique	1	1.65	1.45	1.05	0.99

20

Afin de faciliter la lecture du tableau, les valeurs des mesures pour la phase i ont été volontairement fixées à 1; celles données pour les phases ii, iii, et iv correspondent aux facteurs de corrélation.

25

Cette étude confirme à nouveau l'effet systémique du NO inhalé, lequel permet de réduire notamment la pression auriculaire gauche suggérant un effet de relaxation du ventricule gauche du muscle cardiaque.

Il va de soi que la présente invention peut recevoir aménagements et variantes sans pour autant sortir du cadre de l'invention tel que définit par les revendications qui suivent.

Les réalisations de l'invention, au sujet desquelles un droit exclusif de propriété ou de privilège est revendiqué, sont définies comme il suit:

- 5                   1. Utilisation de monoxyde d'azote en tant que médicament à inhaler ou composante d'un médicament à inhaler, destiné à prévenir ou à lutter contre les réactions inflammatoires consécutives à une circulation sanguine extra-corporelle chez l'homme ou l'animal.
- 10                  2. Utilisation de monoxyde d'azote selon la revendication 1, caractérisée en ce que ledit médicament est inhalé et est administré à l'homme ou à l'animal au moins durant une partie de la phase de préparation opératoire, durant la phase opération et durant une partie de la phase de récupération post-opératoire.
- 15                  3. Utilisation de monoxyde d'azote selon la revendication 2 caractérisée en ce que ledit médicament à inhaler est administré par intubation orale ou nasale à une concentration efficace.
- 20                  4. Utilisation de monoxyde d'azote selon la revendication 2 caractérisée en ce que ledit médicament gazeux est aussi administré au moins durant une partie phase opératoire par oxygénateur à membrane.
- 25                  5. Utilisation de monoxyde d'azote selon la revendication 3 caractérisée en ce que ledit médicament à inhaler est un mélange de gaz comprenant le monoxyde d'azote.
6. Utilisation de monoxyde d'azote selon la revendication 5, caractérisée en ce que ledit mélange de gaz comprend le monoxyde d'azote et

au moins un composé choisi dans le groupe formé par N<sub>2</sub>, He, Xe, Ar, Kr, CO<sub>2</sub>, et O<sub>2</sub>.

5                   7. Utilisation de monoxyde d'azote selon l'une des revendications 1 à 6, caractérisée en ce que la concentration de monoxyde d'azote dans ledit médicament à inhaler est comprise entre 0,5 ppm et 80 ppm.

10                   8. Utilisation de monoxyde d'azote selon la revendication 7, caractérisée en ce que ladite concentration de monoxyde d'azote est comprise entre 1 ppm et 40 ppm.

15                   9. Utilisation de monoxyde d'azote selon la revendication 8, caractérisée en ce que ladite concentration de monoxyde d'azote est comprise entre 3 ppm et 10 ppm, et de préférence, de l'ordre de 5 ppm.

                  10. Utilisation de monoxyde d'azote selon la revendication 1 destinée à préserver les fonctions rénales et pulmonaires suite à la circulation sanguine extra-corporelle.

20                   11. Utilisation de monoxyde d'azote selon la revendication 1 destinée à préserver les fonctions rénales, hépatiques, pulmonaires cardiaques, intestinales et neurologiques suite à la circulation sanguine extra-corporelle.

25                   12. Utilisation de monoxyde d'azote selon la revendication 1 destinée à produire un effet relaxant au niveau du ventricule gauche du muscle cardiaque.